

UNIVERSITI SAINS MALAYSIA

Peperiksaan Semester Pertama  
Sidang Akademik 1994/95

Oktober/November 1994

**BTT 431/3 - Kejuruteraan Genetik**

Masa: [3 jam]

---

Jawab **LIMA** daripada **ENAM** soalan.

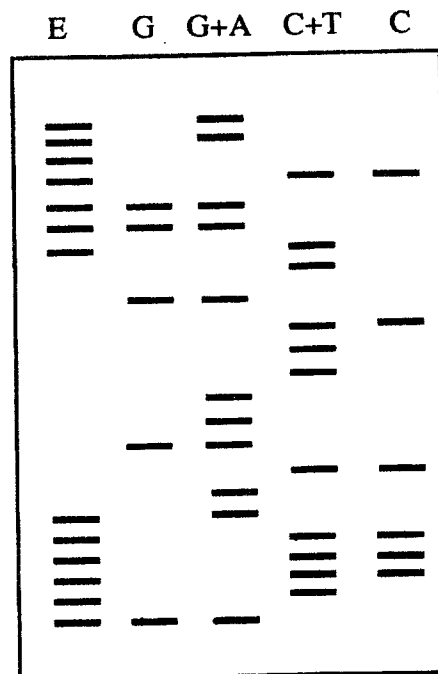
Tiap-tiap soalan bernilai 20 markah.

---

(BTT 431/3)

1. (a) Dengan bantuan gambarajah, huraikan prinsip penjujukan kaedah Sanger. (10 markah)

- (b) Gambarajah di bawah menunjukkan keputusan eksperimen perlindungan DNaseI ke atas satu operon Escherichia coli yang dikawalatur oleh protein represor.



E = Tindakbalas Eksperimen

Huraikan prinsip kaedah eksperimen perlindungan DNaseI ini. Berikan jujukan kawasan kawalaturan operon ini serta kawasan yang dicamkan oleh protein represor ini.

(10 markah)

(BTT 431/3)

2. (a) Projek "Pemetaan Genom Manusia" telah banyak dipermudahkan oleh sistem pengklonan Kromosom Buatan Yis (Yeast Artificial Chromosome atau YAC). Huraikan sistem penklonan YAC dengan bantuan gambarajah.

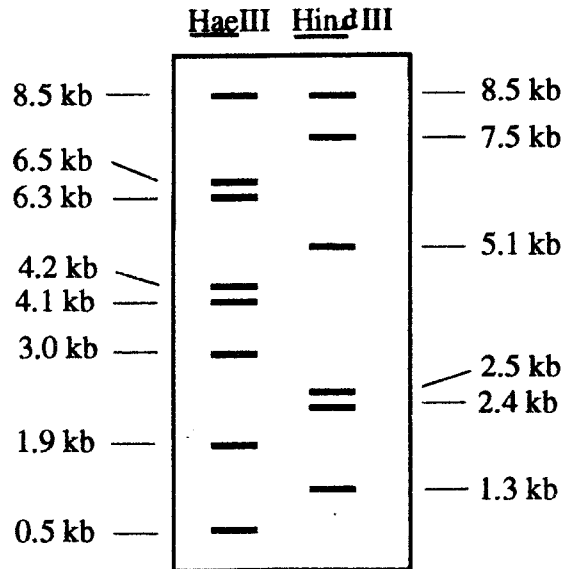
(10 markah)

- (b) Terangkan konsep "perjalanan kromosom" dengan menggunakan perpustakaan Drosophila melanogaster dalam sistem penklonan YAC sebagai misalan.

(10 markah)

3. Anda telah berjaya menklonkan satu serpihan DNA BamHI bersaiz 10 kilopasangan bes (kb) yang berasal daripada Helicobacter pylori. Hujung serpihan ini dilabelkan dengan menggunakan keradioaktifan  $^{32}\text{P}$  dan dihadam dengan enzim EcoRI. Penghadaman ini menghasilkan serpihan bersaiz 8.5 kb dan 1.5 kb. Serpihan terlabel yang bersaiz 8.5 kb dituliskan dan diseparahadam dengan menggunakan enzim pembatasan HindIII dan HaeIII secara berasingan. Setiap campuran tindakbalas ini dielektroforesiskan dalam gel agarosa dan gel ini didedahkan kepada filem autoradiograf sinaran-X. Berikut adalah saiz serpihan yang menunjukkan jalur atas filem tersebut.

(BTT 431/3)



- (a) Terangkan dua kaedah yang sesuai untuk melabelkan serpihan BamHI bersaiz 10.0 kb di atas.

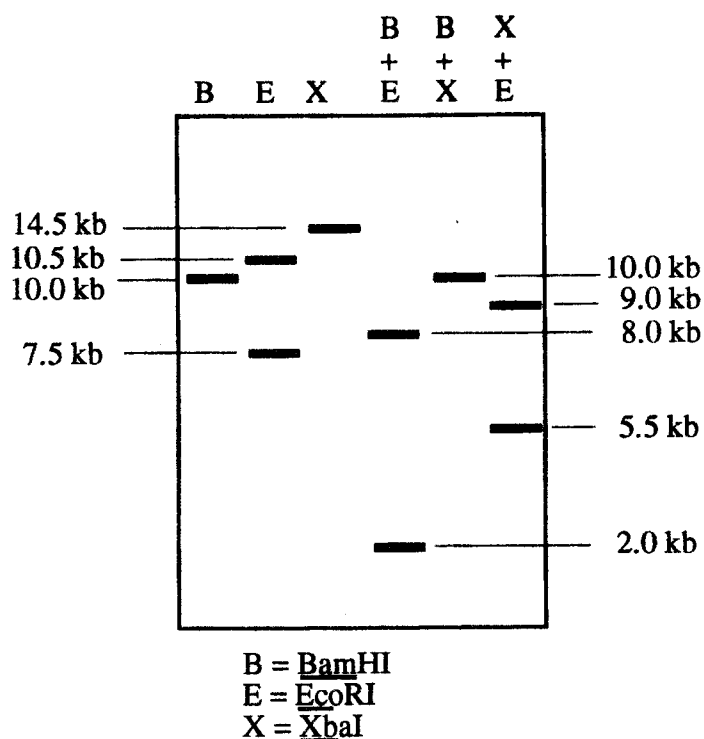
(8 markah)

- (b) Tentukan peta pembatasan serpihan 8.5 kb ini.

(4 markah)

- (c) DNA kromosom Helicobacter pylori yang telah dihadam dengan beberapa enzim pembatasan telah dielektroforesiskan dan dilakukan pemblotan Southern. Jalur yang berhomolog dikesan dengan serpihan 10 kb di atas yang telah dilabelkan dengan translasi takukan. Berikut adalah keputusan yang diperolehi atas filem autoradiograf sinaran-X:

(BTT 431/3)



Lukiskan peta pembatasan untuk kawasan yang berhomolog dalam kromosom Helicobacter pylori ini.

(8 markah)

4. (a) Dengan bantuan gambarajah, huraikan prinsip tindakbalas rantai polimerase serta kegunaannya.

(10 markah)

- (b) Terangkan tindakbalas yang dilakukan oleh protein berikut serta kegunaannya dalam kejuruteraan genetik:

S1 nuklease  
 T4 polinukleotida kinase  
 DNA polimerase I  
EcoRI metilase

(10 markah)

(BTT 431/3)

5. (a) Jujukan protein  $\alpha$ -amylase daripada Bacillus subtilis dan Bacillus circulans telah disejajarkan dengan menggunakan perisian komputer penganalisan DNA. Berikut adalah keputusan penganalisan yang telah dijalankan:

..... KAGVYSFDVN DGKWTGTMIN ARSVAVLYPD . .  
..... SGGFLTTEKN DGKWTGTMLT SRGVPAIYYG . .

Berikan nilai keseirasan (identity) dan nilai kesamaan (similarity) antara kedua-dua jujukan tersebut.

Jika anda ingin menklonkan gen  $\alpha$ -amylase daripada perpustakaan genom *Bacillus amyloliquifaciens*, berikan jujukan oligonukleotida yang sesuai untuk digunakan sebagai prob. Gunakan jadual kodon yang diberi sebagai panduan.

(12 markah)

- (b) Anda telah berjaya tentukan jujukan gen  $\alpha$ -amylase *Bacillus amyloliquifaciens* dan dengan itu, jujukan hipotetikal protein enzim tersebut. Sebahagian daripada kedua jujukan tersebut diberikan di bawah. Anda ingin menukarkan asid amino bernombor 253 daripada triptofan kepada arginina.

(BTT 431/3)

	250	251	252	253	254	255	256	
.....	CCA	AGC	GGC	<b>TGG</b>	TCG	TTG	TCC	.....
.....	Pro	Ser	Gly	<b>Trp</b>	Ser	Leu	Ser	.....

Terangkan langkah-langkah yang anda akan lakukan untuk melakukan mutagenesis bersasaran ini.

(8 markah)

6. (a) Dengan menggunakan pengetahuan anda mengenai operon laktosa, terangkan kaedah untuk menentukan tapak permulaan transkripsi bagi operon ini.

(10 markah)

- (b) Terangkan kaedah untuk menentukan sempadan intron dalam gen eukariot.

(10 markah)

-ooo0ooo-

(BTT 431/3)

Amino acid	Three-letter Abbreviation	One-letter Symbol
Alanine	Ala	A
Arginine	Arg	R
Asparagine	Asn	N
Aspartic acid	Asp	D
Asparagine or aspartic acid	Asx	B
Cysteine	Cys	C
Glutamine	Gln	Q
Glutamic Acid	Glu	E
Glutamine or glutamic acid	Glx	Z
Glycine	Gly	G
Histidine	His	H
Isoleucine	Ile	I
Leucine	Leu	L
Lysine	Lys	K
Methionine	Met	M
Phenylalanine	Phe	F
Proline	Pro	P
Serine	Ser	S
Threonine	Thr	T
Tryptophan	Trp	W
Tyrosine	Tyr	Y
Valine	Val	V

		2nd Position					
		U	C	A	G		
1st Position	U	UUU Phe	UCU Ser	UAU Tyr	UGU Cys	U	3rd Position
		UUC Phe	UCC Ser	UAC Tyr	UGC Cys	C	
		UUA Leu	UCA Ser	<b>UAA End</b>	<b>UGA End</b>	A	
		UUG Leu	UCG Ser	<b>UAG End</b>	UGG Trp	G	
	C	CUU Leu	CUU Pro	CAU His	CGU Arg	U	
		CUC Leu	CCC Pro	CAC His	CGC Arg	C	
		CUA Leu	CCA Pro	CAA Gln	CGA Arg	A	
		CUG Leu	CCG Pro	CAG Gln	CGG Arg	G	
	A	AUU Ile	ACU Thr	AAU Asn	AGU Ser	U	
		AUC Ile	ACC Thr	AAC Asn	AGC Ser	C	
		AUA Ile	ACA Thr	AAA Lys	AGA Arg	A	
		AUG Met	ACG Thr	AAG Lys	AGG Arg	G	
	G	GUU Val	GCU Ala	GAU Asp	GGU Gly	U	
		GUC Val	GCC Ala	GAC Asp	GGC Gly	C	
		GUA Val	GCA Ala	GAA Glu	GGA Gly	A	
		GUG Val	GCG Ala	GAG Glu	GGG Gly	G	

The codons read in the 5'→ 3' direction.  
Termination codons are in bold.



---

**KUMPULAN-KUMPULAN ASID AMINO**

Asid amino tak berkhutub	=	Ala, A Ile, I Trp, W	Val, V Pro, P Met, M	Leu, L Phe, F
Asid amino berkhutub tetapi tak bercas	=	Gly, G Cys, C Gln, Q	Ser, S Tyr, Y	Thr, T Asn, N
Asid amino bersifat asid	=	Asp, D	Glu, E	
Asid amino bersifat bes	=	His, H	Lys, K	Arg, R

---